

## 흰쥐의 척수강내 투여한 Ondansetron에 의한 척수의 현미경적 변화

연세대학교 의과대학 <sup>1</sup>마취과학교실, <sup>2</sup>마취통증의학연구소 및 \*해부학교실

김기준<sup>1,2</sup> · 이윤우<sup>1,2</sup> · 신양식<sup>1,2</sup> · 정효석\* · 안수경\* · 박경아\* · 조선희<sup>1</sup> · 한동우<sup>1,2</sup>

### Microscopic Changes of the Spinal Cord after the Intrathecal Administration of Ondansetron in the Rat

Ki Jun Kim, M.D.<sup>1,2</sup>, Youn-Woo Lee, M.D.<sup>1,2</sup>, Yang-Sik Shin, M.D.<sup>1,2</sup>, Hyo Seok Jeong, M.D.\*, Soo Kyung Ahn, M.D.\*, Kyung Ah Park, M.D.\*, Seon Hee Cho, M.D.<sup>1</sup>, and Dong Woo Han, M.D.<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Department of Anesthesiology and Pain Medicine, <sup>2</sup>Anesthesia and Pain Research Institute and \*Department of Anatomy, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

**Background:** Serotonin type 3 receptors are abundant in the dorsal horn of the spinal cord and in the spinal tract of the trigeminal nerve in the medulla. Moreover, the intrathecal (IT) or epidural administration of ondansetron, a selective 5-hydroxytryptamine 3 (5-HT<sub>3</sub>) receptor antagonist, might prevent postoperative nausea, vomiting and intrathecal opioid-induced pruritus more effectively than the drug administered systemically. Before new drugs for spinal administration are accepted for clinical practice, experimental neurotoxicity studies must be undertaken. This study was performed in rats in order to reveal the behavioral and morphological signs of spinal cord damage after chronic IT ondansetron administration.

**Methods:** Rats were anesthetized using enflurane in oxygen and an 8 cm polyethylene catheter was advanced caudally through the atlanto-occipital membrane under aseptic surgical conditions. Twelve rats were randomly divided into two groups, an ondansetron (O) group (n = 6) and a normal saline (N) group (n = 6). After postoperative 7 days, we started the IT injection of ondansetron 40µg (20µl) or normal saline 20µl once a day over two weeks. Potential changes of spinal cords were evaluated morphologically by light microscopy (LM) and electron microscopy (EM) in addition to behavioral changes.

**Results:** No rat in either groups showed any motor or behavioral changes during the administration of ondansetron. By LM and EM, all six rats in the O group showed massive neovascularization over the white and gray matters of spinal cords.

**Conclusions:** The results suggest that chronic IT administration of ondansetron causes pathologic changes in the rat spinal cord. (Korean J Anesthesiol 2004; 47: 242~5)

**Key Words:** neovascularization, ondansetron, spinal cord.

## 서 론

경막외 혹은 척수강내로의 아편양 제제의 투여는 운동, 감각 및 자율 신경을 차단하지 않고 우수한 진통 효과를 나타내는 장점이 있으나 소양증, 구역, 구토 또는 뇨 저류 등의 부작용을 일으킨다.<sup>1)</sup> Ondansetron은 5-hydroxytryptamine

3 (5-HT<sub>3</sub>) 수용체에 선택적으로 작용하는 길항제로서 다른 항구토제보다 부작용이 적으면서 항암제 치료와 방사선 치료로 유발되는 구역과 구토 예방에 탁월한 효과가 있어 널리 사용되고 있으며,<sup>2,3)</sup> 흡입 마취제 또는 아편양 제제로 유발되는 구역과 구토에도 효과가 있다.<sup>4)</sup> 또한 아편양 제제의 경막외 혹은 척수강내 투여할 때 발생하는 소양증에 대하여 정주함으로써 이를 예방하고 치료한다.<sup>5,6)</sup> 5-HT<sub>3</sub> 수용체는 척수 후각과 삼차 신경 영역에 많이 분포하고 있으므로<sup>7,8)</sup> ondansetron을 정맥내로 주입할 때 보다는 척수강내 혹은 경막외로 직접 주입할 때 구역, 구토 및 소양증을 더욱 효과적으로 치료할 것으로 기대가 된다.

그러나 현재까지의 ondansetron에 관한 연구 중 척수강내 혹은 경막외강에 주입할 때 약물의 효과에 대해서 연구된 바 없다. 어떤 약물을 사람의 척수강내 혹은 경막외강에 투

논문접수일 : 2004년 4월 20일

책임저자 : 한동우, 영동세브란스병원 마취통증의학과  
서울시 강남구 도곡동 146-92, 우편번호: 135-720  
Tel: 02-3497-2740, Fax: 02-3463-0940  
E-mail: hanesth@yumc.yonsei.ac.kr

이 논문은 2003년도 연세대학교 학술연구비 지원에 의하여 이루어진 것임.

여를 하기 위해서는 그 약물이 신경 조직 즉, 척수에 야기할 수 있는 신경 독성에 대한 연구가 반드시 선행되어야 한다. 물론 임상 자료를 얻기 전에 동물에서의 조직학적 변화의 관찰이 필요하다.<sup>9,10)</sup>

이에 본 저자들은 2주 동안 ondansetron을 쥐의 척수강내로 투여한 후 발생할 수 있는 신경학적 손상과 척수의 조직학적 변화를 관찰하여 척수강내로 투여된 ondansetron이 척수 신경에 야기할 수 있는 독성 여부를 알아보고자 하였다.

## 대상 및 방법

몸무게 250-300 g의 수컷 Sprague-Dawley 쥐를 대상으로 하였다. 실험 전 물과 먹이를 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였다. 실험실은 12시간 동안 빛을 받고 12시간 동안 어둡게 조절하였다. Enflurane 흡입 마취 하에 쥐를 뇌경위 장치에 고정하고 두개골 위에서 정중선을 따라 절개하고 근육을 분리한 다음 환후후두막이 노출되도록 하였다. 23 G 바늘 끝으로 경막을 절개하고 척수액이 나오는 것을 확인 후, polyethylene (PE-10, Becton Dickinson, USA) 카테터를 8 cm 하방까지 삽입하여 카테터 끝이 요부 확장부에 위치하도록 하였다. 카테터 다른 끝은 피하를 통하여 두개골 상부에 고정하였다. 피부 절개 부위를 봉합 후 마취에서 각성시켰다. 모든 수술 기구와 카테터는 멸균 소독하여 사용하였다.

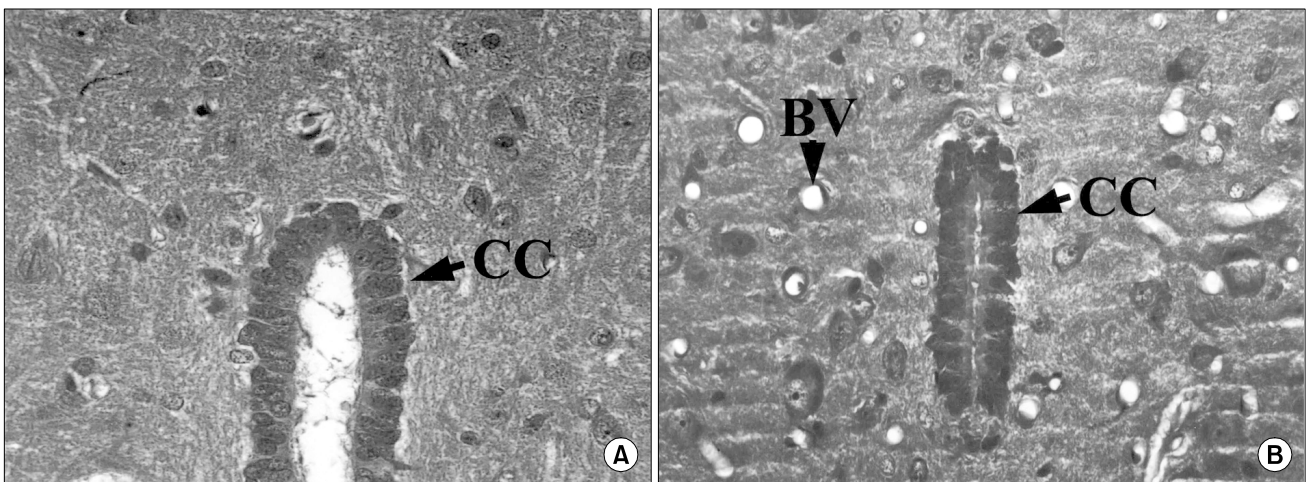
카테터를 삽입 후 1주일 동안 물과 먹이를 자유롭게 섭취하도록 하면서 신경학적 손상 유무를 관찰하였다. 신경학적 손상을 보이는 쥐는 실험에서 제외하였다. 약물 투여는 무작위로 두 군으로 나누어 Hamilton 주사기(Hamilton micro-liter syringe, Hamilton Co, USA)를 이용하여 N군(n = 6)

은 생리식염수 20 ml를, O군(n = 6)은 ondansetron (Zofrana®, GlaxoSmithKline, UK) 40µg (20µl)을 척수강내로 주사하였다. 카테터의 사강 용적을 고려하여 약물 주입 후 두 군 모두 생리 식염수 10µl를 추가로 주입하였다. 2주 동안 24시간 간격으로 하루에 1회씩 각각의 약물을 투여하며 케이지 내부에서 쥐들이 운동하는 것을 관찰하여 신경학적 손상의 유무를 확인하였다.

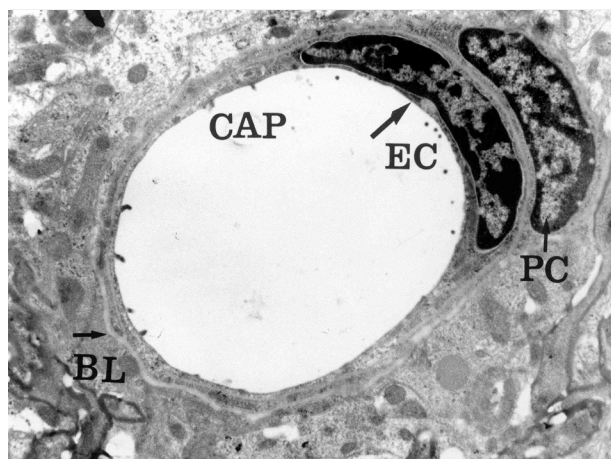
마지막 약물 주입 24시간 후 enflurane으로 마취 후 10,000 U/L heparin이 함유된 pH 7.4, 38°C Thyrode 용액을 심장을 통해 관류시킨 다음, 0.1 M phosphate buffer 함유의 1% formaldehyde, 2% glutaraldehyde 혼합 용액을 20분 동안 관류시켰다. 쥐를 laminectomy를 하여 카테터를 포함하여 척수를 완전히 분리하였고, L<sub>1</sub> 분절을 vibratome으로 절개하였다. 절개한 조직을 pH 7.4, 0.1 M sodium cacodylate buffer로 세척한 다음 1% OsO<sub>4</sub>, veronal acetate buffer 혼합 용액에 1시간 30분 동안 고정을 시켰다. 조직을 건조시킨 다음 2시간 동안 2% uranyl acetate, 70% ethanol에 처리 후, 1µm 절편을 toluidine blue에 염색 후 광학 현미경으로 관찰하였다. 초미세 절편을 uranyl acetate와 lead citrate에 염색 후 전자 현미경으로 관찰하였다. 조직 소견은 해부 조직학 전문의가 관찰하였다.

## 결 과

양 군 모두에서 정상적으로 물과 먹이를 섭취하고, 하루 2-7 g의 몸무게 증가를 보여 군 간 차이가 없었다. 카테터를 삽입 후 약물을 주입하는 2주 동안 양 군의 어떤 쥐에서도 신경학적 손상은 관찰되지 않았다. 척수 제거 시 육안



**Fig. 1.** A: Normal neurons, glial cells and blood vessels of spinal cord in normal saline- administered rats are showed by light microscopy ( $\times 400$ ). B: Massive neovascularization developed all over the white matter and gray matter of spinal cord in ondansetron-administered rats are showed by light microscopy ( $\times 400$ ). BV: blood vessel. CC: central canal.



**Fig. 2.** Electron microscopy shows that new developed capillary of spinal cord in ondansetron-administered rats is composed of the lining endothelial cells with intact underlying basal lamina ( $\times 12,800$ ). BL: basal lamina. CAP: capillary. EC: endothelial cell. PC: pericyte.

적 소견 상 어떤 쥐에서도 출혈이나 조직 괴사는 관찰되지 않았다.

광학 현미경 상에서 N군에서는 백색질(white matter)과 회색질(gray matter) 전반적으로 정상 혈관 분포 소견을 보였고, 회색질 내 신경원(neuron)과 신경아교세포(glial cell) 핵이 정상 형태로 특이한 병적 소견이 관찰되지 않았다. O군에서는 6마리 모두에서 회색질 내 신경원과 신경아교세포 핵이 정상 소견이었으나, 백색질과 회색질 전반에 걸쳐 많은 신생 혈관이 형성되어 있었다. 그 외 염증 세포나 공포(vacuole)는 관찰되지 않았다(Fig. 1).

광학 현미경 상에서 신생 혈관이 형성된 표본 모두를 전자 현미경으로 본 결과 신생 모세혈관은 내피세포(endothelial cell)가 존재하며, 기저부 쪽에서는 기저판(basal lamina)이 완전하게 연속된 구조로 내피세포 주변을 둘러싸고 있는 것이 관찰되었다. 주변의 혈관주위세포(pericyte)들 역시 연속된 기저판이 둘러싸고 있는 것이 관찰되었다(Fig. 2).

## 고 찰

본 연구에서는 카테터를 통하여 ondansetron을 투여하는 동안 어떤 쥐에서도 육안적 소견 상 신경학적 손상이 관찰되지 않았으나, 광학 현미경 상에서는 약물을 투여한 6마리 모든 쥐에서 회색질과 백색질 전반에 걸쳐 다량의 신생 혈관이 형성되었다.

Ondansetron을 투여한 군에서 형성된 신생 혈관은 전자 현미경 관찰 상 내피세포와 연속적인 기저판으로 구성된 완전한 혈관 구조를 나타내었는데 이러한 중추 신경계의

혈관 생성은 허혈, 부종, 종양, 혈관 기형, 동맥 경화 혹은 감염 등의 다양한 원인에 의해 혈관 생성 촉진 인자들이 분비됨으로써 나타난다.<sup>11)</sup> 척수 허혈에 의한 조직 손상 시는 회색질에 주로 나타나며, 특징적으로 연필 모양의 연화(pencil-like softening)를 동반하는 것으로 알려져 있다.<sup>12)</sup>

본 연구의 모든 흰쥐에서 ondansetron을 척수강내로 매일 투여하는 2주 동안 쥐의 운동 기능 손상 유무 관찰에서는 아무런 손상이 없었고, 정상적인 물과 먹이 섭취를 하고 몸무게가 정상적으로 증가하였고, 두 군간에 차이가 없었다. 그러나 광학 현미경과 전자 현미경의 조직학적 소견 상 회색질과 백색질 전반에 걸쳐 나타난 신생 혈관은 척수 신경 손상을 의미한다. 척수강내로 투여 시 조직 변화를 일으키는 약물을 임상적 장애 유무의 관찰만으로 약물의 신경 독성을 평가하는 것은 위험하다.<sup>13)</sup> 임상 증상이 급성으로 관찰되지 않더라도 이러한 조직학적 변화가 확대되어 뚜렷해지거나, 생체가 신경학적 장애를 보상할 수 있는 능력이 감소하는 경우에는 증상이 발현될 수 있다는 것을 염두에 두어야만 한다.<sup>10)</sup>

약물이 척수 신경에 미칠 수 있는 독성 실험에는 반복 투여 시 발생할 수 있는 척수 조직 변화의 현미경적 관찰 뿐만 아니라 척수 혈류 변화도 고려하여야 하나<sup>9,14)</sup> 본 연구에서는 운동 기능 손상 유무의 관찰과 광학 현미경과 전자 현미경을 이용한 조직학적 변화만을 조사하였다. 본 연구에서는 ondansetron의 척수 독성을 보기 위하여 투여 경로를 척수강내로 선택하였는데, 약물의 척수 신경 독성은 경막외 투여 시보다는 척수강내로의 투여 시 훨씬 정도가 심하고, 뚜렷하게 나타나므로<sup>15)</sup> 척수 신경 독성 여부를 관찰하기 위해서는 경막외보다는 척수강내로의 약물 투여가 더 적합한 것으로 생각된다. 또한 본 연구에서 ondansetron에 의한 척수의 혈류 변화는 점검하지 못 하였지만 척수의 허혈성 병변이 없었던 것으로 보아 혈류 장애는 없는 것으로 여겨진다.

Ondansetron을 투여한 쥐들에서 관찰된 신생 혈관 생성이 척수강내로 삽입 된 카테터에 의한 척수 신경 손상의 결과로도 의심해 볼 수 있지만, 카테터 삽입 시 모든 기구와 카테터를 멸균 소독하여 오염되지 않은 시술로 카테터를 삽입하였고, 카테터 삽입 후 약물 투여 전 까지 운동 기능 장애가 있는 쥐는 실험 대상에서 제외시켰기 때문에 카테터에 의한 신경 손상 가능성은 배제할 수 있었다. 또한 척수 제거 시 육안적으로 척수 조직에 출혈이나 괴사 소견이 없었으며, ondansetron 투여군에서 형성된 신생 혈관이 특정 부위에 한정되어 분포한 것이 아니라 회색질과 백색질 전반에 걸쳐 골고루 분포한 소견은 약물에 의한 효과임을 뒷받침하고 있다.

모든 쥐에서 카테터를 삽입 후 척수를 제거할 때까지의 3주 동안 카테터를 거치한 상태로 자유롭게 물과 먹이를

주며 운동을 시켰는데, Coombs와 Fratkin은<sup>16)</sup> 동물에서 척수강내 카테터를 장기간 거치 시 카테터 자체에 의한 카테터 주위의 섬유화나 림프구의 침윤이 나타날 수 있다고 하였으나, 본 연구에서는 어떠한 군에서도 이러한 소견이 관찰되지 않았다.

척수강내로 일회 투여한 ondansetron의 용량은 40 $\mu$ g으로 쥐의 몸무게 300 g을 기준으로 했을 때 0.13 mg/kg의 용량으로 체중 60 kg 성인에게 일회 정주 시 8 mg에 상응하는 용량이었으나 흰쥐와 인체의 척수에서 ondansetron에 대한 민감도는 알려진 바 없다. 본 연구에서는 ondansetron을 2주 동안 척수강내로 투여하였는데, 이는 1-2회 투여 시는 척수 신경 손상이 뚜렷하지 않아 간과할 수도 있는 소견을 반복된 약물 주입을 함으로써 조직학적 변화가 명확하게 나타나도록 하기 위함이었다. 일회 투여만으로도 척수 신경 손상을 유발할 지는 알 수 없으며 또한 일회 투여 시 나타날 수 있는 손상이 가역적일지 영구적일지에 대해서도 더 많은 연구가 필요하다. 본 동물 실험을 통하여 볼 수 있는 병변이 인체에 적용될 수 있을지는 단언할 수 없고 향후 보다 다각적인 동물 실험이 요구된다.

결론적으로 ondansetron을 2주 동안 쥐의 척수강내로 투여하였을 때 육안적으로는 신경학적 장애가 관찰되지 않았지만, 광학 현미경 관찰 상으로는 척수의 회색질과 백색질 전반에 걸쳐 다량의 신생 혈관이 형성됨을 알 수 있었다.

## 참 고 문 헌

1. Cousins MJ, Mather LE: Intrathecal and epidural administration of opioids. *Anesthesiology* 1984; 61: 276-310.
2. Raphael JH, Norton AC: Antiemetic efficacy of prophylactic ondansetron in laparoscopic surgery: randomized, double-blind comparison with metoclopramide. *Br J Anaesth* 1993; 71: 845-8.
3. Bunce KT, Tyers MB: The role of 5-HT in postoperative nausea and vomiting. *Br J Anaesth* 1992; 69: 60s-2s.
4. Rung GW, Clayban L, Hord A, Patel C, Kallgren M, Koppel J, et al: Intravenous ondansetron for postsurgical opioid-induced nausea and vomiting. *Anesth Analg* 1997; 84: 832-8.
5. Borgeat A, Stirnemann HR: Ondansetron is effective to treat spinal or epidural morphine-induced pruritus. *Anesthesiology* 1999; 90: 432-6.
6. Gurkan Y, Toker K: Prophylactic ondansetron reduces the incidence of intrathecal fentanyl-induced pruritus. *Anesth Analg* 2002; 95: 1763-6.
7. Waeber C, Dixon K, Hoyer D, Palacios JM: Localization by autoradiography of neuronal 5-HT<sub>3</sub> receptors in the mouse CNS. *Eur J Pharmacol* 1988; 151: 351-2.
8. Laporte AM, Doyen C, Nevo IT, Chauveau J, Hauw JJ, Hamon M: Autoradiographic mapping of serotonin 5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1D</sub>, 5-HT<sub>2A</sub> and 5-HT<sub>3</sub> receptors in the aged human spinal cord. *J Chem Neuroanat* 1996; 11: 67.
9. Yaksh TL, Collins JG: Studies in animals should precede human use of spinally administered drug. *Anesthesiology* 1989; 70: 4-6.
10. Gordh T, Post C, Olsson Y: Evaluation of the toxicity of subarachnoid clonidine, guanfacine and a substance P-antagonist on rat spinal cord and nerve roots: light and electron microscopic observations after chronic intrathecal administration. *Anesth Analg* 1986; 65: 1303-11.
11. Harrigan MR: Angiogenic factors in the central nervous system. *Neurosurgery* 2003; 53: 639-61.
12. Nagashima K: Pathology of vascular disorders of the spinal cord; non-arteriosclerotic disease and pencil-shaped softening. *Adv Neurol Sci (Tokyo)* 1976; 18: 512-24.
13. Erdine S, Yucel A, Ozyalcin S, Ozyuvaci E, Talu GK, Ahiskali B, et al: Neurotoxicity of midazolam in the rabbit. *Pain* 1999; 80: 419-23.
14. Yaksh TL: Effects of spinally administered agents on spinal cord blood flow. A need for further studies. *Anesthesiology* 1983; 59: 173-5.
15. Kiriara Y, Saito Y, Sakura S, Hashimoto K, Kishimoto T, Yasui Y: Comparative neurotoxicity of intrathecal and epidural lidocaine in rats. *Anesthesiology* 2003; 99: 961-8.
16. Coombs DW, Fratkin JD: Neurotoxicology of spinal agents. *Anesthesiology* 1987; 66: 724-6.